

補助事業番号 2020M-148

補助事業名 2020年度 細胞膜受容体を用いた低分子ケミカルセンサの研究開発 補助事業

補助事業者名 兵庫県立大学 鈴木雅登

1 研究の概要

生物が有する、多様な受容体を利用して低分子をセンシングするデバイスの構築が本事業の目的である。そのために、受容体と低分子の結合によって細胞膜電位が変化するように設計した人工センサ細胞を構築し、その人工細胞の信号を簡単に高スループットに検出する電気回転デバイスを創出する。

2 研究の目的と背景

本研究では、細胞膜受容体への低分子の結合を簡便に検出する電極デバイスを創出し、細胞膜受容体を利用した低分子センサ原理の確立を目的とする。細胞膜には様々な受容体タンパク質が発現しており、細胞はその膜タンパク質を利用して外界の情報をセンシングする。特に嗅覚受容体はヒトで約400種類、マウスで約1,100種類あり、種々の揮発性の低分子と結合でき、センサ素子への利用が期待できる。

細胞膜上の受容体と低分子の結合の検出には、1つ1つの細胞にガラス電極を接触させるパッチクランプ法が利用される。この方法は正確に低分子の結合の検出が可能であるが一度に一細胞の評価しかできず、計測のスループットに課題がある。そこで本研究では、一度に複数の細胞に対して低分子刺激を行い、さらにその分子に対する個々の細胞の応答を迅速検出可能な電極デバイスを創出した。細胞の応答の検出に電気回転法を利用した。電気回転は、回転電場にさらされた細胞が、回転する現象であり、その回転速度は細胞膜容量と細胞質導電率に依存する。低分子刺激時の細胞の回転速度の計測だけで、受容体と低分子の結合の検出が達成される。

3 研究内容

低分子化合物の細胞膜の結合を電気回転速度の変化として検出

Indium-tin-oxide (ITO) マイクロバンド電極上にフォトレジストで細胞捕捉用のマイクロウェル (20 μm \times 30 μm , 高さ20 μm) を作製した。さらにITOマイクロバンド電極に対して直交するように厚膜レジスト上にAuマイクロバンド電極を配置させ、電気回転デバイスとした(図1)。細胞懸濁液をデバイスへ導入し、デバイス底面のITO電極とウェル上部の金電極の4つの電極に位相を90度ずつずらして、交流電圧(300 kHz, 1 V_{pp})を印加すると、ウェル内で細胞が回転した。一回の操作で40個以上の細胞に対して一括で電気回転の誘導ができ、回転速度は5分以上変化がなく、マイクロウェルに捕捉された細胞が一定速度で電気回転し続けることが判明した。そこで、細胞を活性化させる低分子であるイオノマイシン添加し、回転速度を計測した。細胞を回転させ10秒後にイオノマイシンで刺激すると、全ての細胞はウェル内に保持され回転を維持した。さらに、イオノマイ

シン刺激により、回転速度が徐々に減少した。一方、イオノマイシンを添加しない場合、回転速度は減少しなかった。リアルタイムに低分子化合物の転嫁に伴う電気回転速度の変化が計測可能な電極デバイスを作製できた。低分子化合物の細胞への影響を、電気回転速度としてリアルタイムに検出した本結果は、世界初の結果である。これは、本事業で作製したマイクロウェルを有した電気回転デバイスの賜物である。この成果はイノベーションジャパン2020に出展した(図2)。

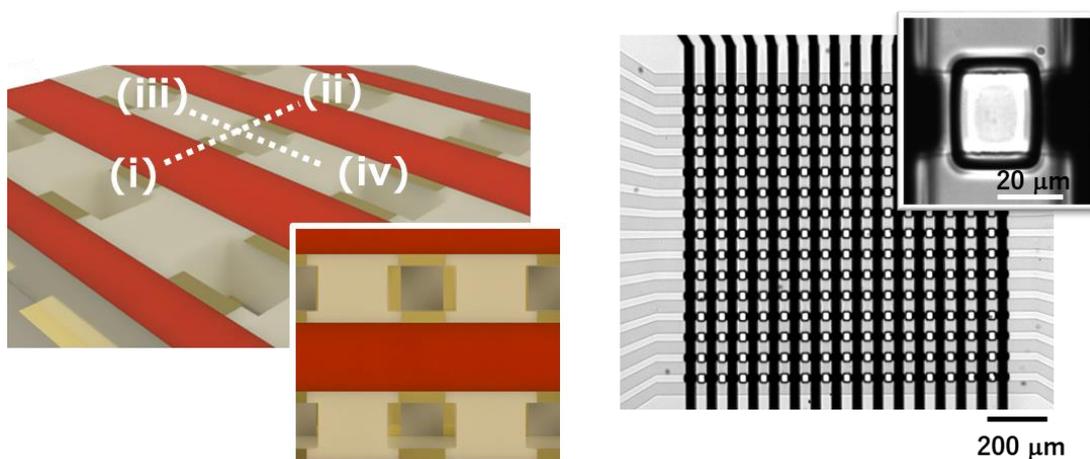


図1. (左)設計した電極デバイスのデザインと(右)作製した電極デバイスの光学顕微鏡写真



図2. イノベーションジャパン2020への出展

4 本研究が実社会にどう活かされるか—展望

21世紀は交通網の飛躍的な進化に伴い、多様なモノやヒトが国境や海を越えて激しく往来する時代である。一方で、この進化した国際的な交通網によって、コロナウイルスは全世界に蔓延し、昨今のコロナ禍が生じてしまった。このようにグローバルな往来は、感染症の蔓延、もしくはテロ活動の国際的な広がりといった、社会課題を人類に突き付けている。様々なヒトやモノであふれる空間の中から、病原体(ウイルスや細菌)さらには爆発物や危険物から生じる微量な低分子をその場で簡単・迅速に検出することができれば、健康や安心を脅かすリスクの除去という対策を立てることができる。このような社会課題に対して、本研究ではその場で迅速・簡便に低分子化合物

(分子量500以下)を検出するセンサ原理の創出を行った。このようなセンサ原理の創出は、空間中に含まれる微量な爆発物や危険物の早期検出、呼気や飛沫に含まれるバイオマーカーの検出などに繋がる。最終的にはこの創出したセンサ原理を搭載したデバイスを具現化し、テロや病気のリスクを恐れずに多様なヒトとモノが自在に行き来できる社会の実現に貢献する。

5 教歴・研究歴の流れにおける今回研究の位置づけ

本事業者はこれまで、電気回転現象を利用して、細胞に対して染色や標識なく細胞の種類を識別、細胞の分化状態の識別などを明らかにしてきた。これまで用いてきた電気回転デバイスの課題は、電気回転計測中に溶液の交換ができず、低分子化合物を添加した際の細胞の動的な変化を電気回転速度の変化として検出できない点であった。本事業によって、世界に先駆けてマイクロウェルを有した電気回転デバイスを具現化した。そしてこのデバイスを用いて、低分子化合物によって誘導される細胞の活性化を回転速度の変化としてモニタリングできることを実証した。この成果は細胞に対して非侵襲的に、細胞の活性化を検出する分析法を確立したことを示す。今後は細胞を利用した低分子センサの実現だけでなく、細胞集団の中から希少な細胞や特定の機能を有した細胞を選別する、単一細胞解析装置へと展開する。

6 本研究にかかわる知財・発表論文等

知財：発明の名称「電気回転デバイス及びこれを備えた細胞評価システム」特願2020-093819

発明者：鈴木雅登，河合志希保，安川智之，出願人：公立大学法人 兵庫県立大学

7 補助事業に係る成果物

(1)補助事業により作成したもの

https://www.sci.u-hyogo.ac.jp/material/analytical_chem/index-j.html

(2)(1)以外で当事業において作成したもの

特になし

8 事業内容についての問い合わせ先

所属機関名： 兵庫県立大学 大学院理学研究科

(ヒョウゴケンリツダイガク ダイガクインリガクケンキュウカ)

住 所： 〒678-1297

兵庫県赤穂郡上郡町光都3丁目2-1

担 当 者： 准教授 鈴木 雅登 (スズキ マサト)

担 当 部 署： 化学分析学講座 (カガクブンセキガクコウザ)

E - m a i l: suzuki@sci.u-hyogo.ac.jp

U R L: https://www.sci.u-hyogo.ac.jp/material/analytical_chem/index-j.html